



EP 03 / 08527

Rec'd PCT/PTC 27 JAN 2005

**Prioritätsbescheinigung über die Einreichung  
einer Patentanmeldung**

**Aktenzeichen:** 102 40 787.8

**Anmeldetag:** 30. August 2002

**Anmelder/Inhaber:** Oxyphen AG, Zug/CH

REC'D 19 SEP 2003

WIPO PCT

**CERTIFIED COPY OF  
PRIORITY DOCUMENT**

Erstanmelder: Oxyphen GmbH Dresden,  
Großserkmannsdorf/DE

**Bezeichnung:** Zellkultureinsatz

**IPC:** C 12 M 1/18

**PRIORITY DOCUMENT**  
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN  
COMPLIANCE WITH  
RULE 17.1(a) OR (b)

**Die angehefteten Stücke sind eine richtige und genaue Wiedergabe der ur-  
sprünglichen Unterlagen dieser Patentanmeldung.**

München, den 28. August 2003  
**Deutsches Patent- und Markenamt**  
**Der Präsident**  
Im Auftrag

Stremme

**BEST AVAILABLE COPY**

## **Zellkultureinsatz**

Die Erfindung betrifft einen Zellkultureinsatz in Becherform mit einem Membranfilter und seitlich herausstehenden Abstandhaltern und Tragarmen zum Einhängen in ein Well einer Zellkulturplatte.

Zellkultureinsätze sollen, um mit ihnen bequem arbeiten zu können, eine große Einfüllöffnung besitzen. Auch der untere Querschnitt mit der Membran soll ausreichend groß sein, um einen guten Flüssigkeitsaustausch zwischen dem Becherinhalt und dem Wellinhalt zu erlauben. Auch ist es günstig, die Zellkultureinsätze in das Well einzuhängen, um an dem unteren Rand des Einsatzes keine das Zellwachstum störenden Füße zu haben. Neben der Zugänglichkeit des Zellkultureinsatzes durch die Einfüllöffnung ist auch die Zugänglichkeit des Wellbodens für Pipetten wichtig.

So sind Zellkultureinsätze in Becherform, beispielsweise aus der Patentschrift US 4,871,674 und US 5,578,492, bekannt, die in ein Well eingehängt sind und den Zugang zum Zellkultureinsatz und zum Well erlauben. Die hier beschriebenen Zelleinsätze sind symmetrisch aufgebaut und besitzen im eingehängten Zustand rund um die Einsätze nur kleine Beschickungsfenster für das Einführen von Pipetten in das Well.

In der Patentschrift US 4,871,674 ist beschrieben, dass der Zellkultureinsatz in eine obere Stellung gebracht werden kann, um das Beschickungsfenster zum Einführen einer Pipette zu vergrößern. Dabei liegt der Zellkultureinsatz an der Wand des Wells an, wodurch die Zellen im Well geschädigt werden.

Die bekannten Zellkultureinsätze sind aus dem gleichen einfarbigen Kunststoff hergestellt, wie die Zellkulturplatte mit den Wells. Dadurch ergibt sich eine schlechte Unterscheidbarkeit („weiß auf weiß“) zwischen Well und Zellkultureinsatz, womit das manuelle Arbeiten erschwert ist.

Es ist Aufgabe der Erfindung, einen verbesserten Zellkultureinsatz mit ausreichend großer Membranfläche anzugeben, bei dem das Beschickungsfenster für das Well wesentlich größer ist und bei dem keine Bewegung des Einsatzes erforderlich ist, um Pipetten in das Beschickungsfenster einzuführen.

Gelöst wird diese Aufgabe dadurch, dass die Abstandshalter auf dem Umfang des Zellkultureinsatz verteilt und zur Seite so unterschiedlich lang ausgebildet sind, dass sich ein großes Beschickungsfenster ergibt.

Vorteilhafte Ausgestaltungen der Erfindung sind in den Unteransprüchen angegeben.

Der becherförmige Zellkultureinsatz hängt an Tragarmen auf dem oberen Rand des Wells und ist über unterschiedlich lange Abstandshalter asymmetrisch positioniert. Dabei bildet sich zwischen den längsten Abstandhaltern ein Beschickungsfenster aus, in das bequem Pipetten eingeführt werden können.

Drei Abstandshalter, die umfangsmäßig auf über 180 Grad verteilt sind, sind minimal erforderlich, um den Zellkultureinsatz in der Öffnung des Wells definiert zu positionieren. Das größte Beschickungsfenster ergibt sich, wenn einer der drei Abstandshalter kürzer als die beiden anderen ist.

Günstig in dieser Anordnung ist, dass der kürzeste Abstandhalter einen Mindestabstand zwischen dem Zellkultureinsatz und der Wand des Wells so bestimmt, dass Quetschungen von Zellen zwischen dem Zellkultureinsatz und der Wellwand vermieden werden.

Vorteilhaft sind ein kurzer Abstandhalter und zwei gleich lange Abstandsstege umfangsmäßig gleich verteilt am Becher angeordnet. Die Abstandstege, die beim Einführen des Zellkultureinsatzes in das Well eine asymmetrische Positionierung darin übernehmen, sind vorteilhafterweise nach unten verjüngt. Die Tragearme sorgen dafür, dass der Zellkultureinsatz in einer definierten Höhe im Well hängt. Der kürzeste Abstandhalter sorgt dafür, dass ein Mindestabstand zwischen den Wänden vom Zellkultureinsatz und dem Well eingehalten wird.

Trotz der exzentrischen Aufhängung des Zellkultureinsatzes im Well bleibt für die automatische optische Auswertung der Zellkulturplatten mit den hier beschriebenen

Zellkultureinsätzen ein genügend großes Beobachtungsfenster von z.B. 3 mm Durchmesser über der Mitte der Wells erhalten.

Wird ein größeres Beschickungsfenster benötigt, kann der Zellkultureinsatz mit einer Pipette nach oben geschoben werden, wobei es an den schrägen Abstandhaltern entlang ein Stück aus dem Well gleiten kann. Nach dem Entfernen der Pipette gleitet der Zellkultureinsatz an den Abstandhaltern entlang zuverlässig in das Well zurück.

Durch die hohe geschlossene Bauart des Zellkultureinsatzes wird die Kontamination zwischen Innen- und Außenseite des Zellkultureinsatzes vermieden.

Für die Handhabung des Zellkultureinsatzes im Well lässt er sich mittels einer Pinzette an einem der langen Tragarme leicht erfassen, einsetzen und auch wieder herausheben.

Alle für Zellkultureinsätze genutzte Membranen können verwendet werden; Kapillarenmembranen aus Polyester oder Polycarbonat haben den Vorzug einer genau einstellbaren Porosität und Transparenz.

Vorteilhafterweise wird der Zellkultureinsatz aus einem eingefärbten Kunststoff hergestellt, der einen sichtbaren Kontrast zu dem Material des Wells darstellt. Damit ist die Erkennbarkeit der Einfüllöffnung verbessert.

Eine Ausführung der Erfindung ist in den Figuren beispielhaft beschrieben.

Fig. 1 zeigt eine Draufsicht auf den Zellkultureinsatz im Well.

Fig. 2 zeigt eine Ansicht des Zellkultureinsatzes von der Seite mit drei Abstandstegen

Fig. 3 zeigt eine Ansicht des Zellkultureinsatzes von der Seite mit Abstandstegen und Abstandshalter

Fig. 4 zeigt eine Schnittdarstellung des Well mit Zellkultureinsatz mit Abstandhalter

Fig. 5 zeigt eine Schnittdarstellung des Well mit Zellkultureinsatz mit Schräge

In Fig. 1 ist in der Draufsicht dargestellt, wie in einer runden Öffnung im Well 2 ein Zellkultureinsatz 1 außermittig zur Öffnung gehalten ist. Er wird von drei Tragearmen 3, 4 gehalten, wobei der Tragearm 3 kürzer als die beiden anderen ausgeführt ist. Dadurch ergibt sich das große Beschickungsfenster 5, in das eine Pipette eingeführt werden kann. Auch die Öffnung 6 des Zellkultureinsatzes ist gut von oben zugänglich. Die Tragearme 3, 4 sind jeweils um 120 Grad versetzt angeordnet.

Fig. 2 zeigt eine Seitenansicht des becherförmigen Zellkultureinsatzes 1. An ihm sind lange dreieckförmigen Abstandstege 7 seitlich nach unten verjüngt und ein weiterer kürzerer Abstandsteg 7a angebracht. Oben sind an ihm die Tragearme 3, 4 ausgeformt, von denen der Tragearm 3 kürzer ist.

Fig. 3 zeigt eine Seitenansicht des becherförmigen Zellkultureinsatzes 1. An ihm sind die dreieckförmigen Abstandstege 7 und ein weiterer Abstandhalter 8 angebracht.

Fig. 4 zeigt einen Schnitt durch das zylindrische Well 2 mit eingehängtem Zellkultureinsatz 1. Die Tragearme 3, 4 liegen oben auf dem Well 2 auf und bestimmen die Höhenlage des Zellkultureinsatzes 1. Über die Abstandstege 7 und dem Abstandhalter 8 wird der Abstand zwischen den Wänden definiert gehalten. Das Beschickungsfenster 5 liegt zwischen den langen Tragearmen 4. Der Zellkultureinsatz 1 besitzt oben die Öffnung 6 und unten die Membran 9. Der Abstand zwischen den Wänden ist in der Höhe des Flüssigkeitsspiegels 10 so groß, dass sich keine Kapillarwirkung ergibt.

Fig. 5 zeigt den gleichen Schnitt wie Fig. 4, mit dem Unterschied, dass der Abstand zwischen den Wänden in Höhe des Flüssigkeitsspiegels 10 durch die Schräge des Zellkultureinsatzes 1 bestimmt wird.

## Bezugszeichenliste

- 1 Zellkultureinsatz
- 2 Well
- 3 kurzer Tragearm
- 4 langer Tragearm
- 5 Beschickungsfenster
- 6 Öffnung des Zellkultureinsatzes
- 7 Langer Abstandsteg
- 7a Kurzer Abstandsteg
- 8 Abstandhalter
- 9 Membran
- 10 Flüssigkeitsspiegel

## Patentansprüche:

1. Zellkultureinsatz (1) in Becherform mit einem Membranfilterboden und mit umfangsmäßig verteilten herausstehenden Tragearmen (3, 4) und Abstandhaltern (7, 8) zum Einhängen in ein Well einer Zellkulturplatte (2), dadurch gekennzeichnet, dass die Abstandshalter (7, 8) auf dem Umfang des Zellkultureinsatz (1) verteilt und zur Seite so unterschiedlich lang ausgebildet sind, dass sich ein großes Beschickungsfenster (5) ergibt.
2. Zellkultureinsatz nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass mindestens zwei der Abstandhalter als dreieckige Abstandstege (7) ausgeführt sind.
3. Zellkultureinsatz nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass der kürzeste Abstandhalter (8) einen Mindestabstand zwischen der Wand des Zellkultureinsatzes (1) und dem Well (2) bestimmt, der ein kapillares Aufsteigen von Flüssigkeit verhindert.
4. Zellkultureinsatz nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass der Abstand zwischen der Wand des Zellkultureinsatz (1) und dem Well (2) durch die Schräge des Zellkultureinsatz bestimmt ist.
5. Zellkultureinsatz nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass der Zellkultureinsatz (1) an drei Tragearmen (3, 4) in das Well (2) asymmetrisch eingehängt ist.
6. Zellkultureinsatz nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die Tragarme (3,4) mit den Abstandhaltern (7, 8) umfangsmäßig je um 120 Grad versetzt angeordnet sind.
7. Zellkultureinsatz nach einem der vorstehenden Ansprüche, dass das Material des Zellkultureinsatzes (1) eingefärbt ist.

Fig. 1

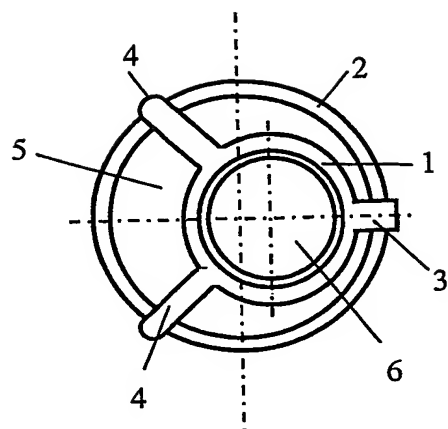


Fig. 2

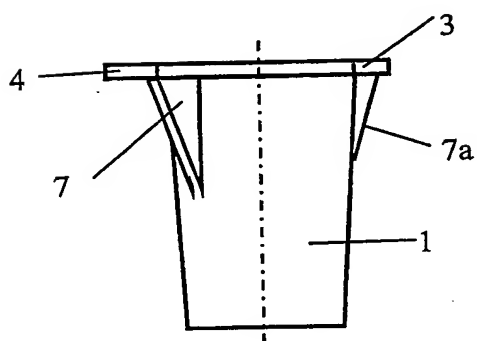
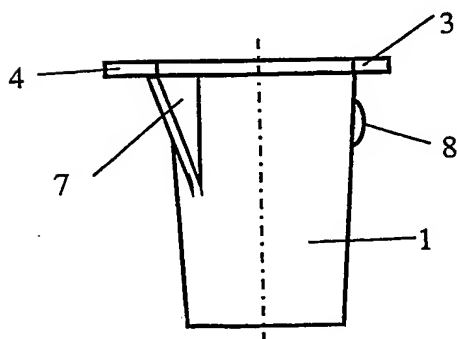
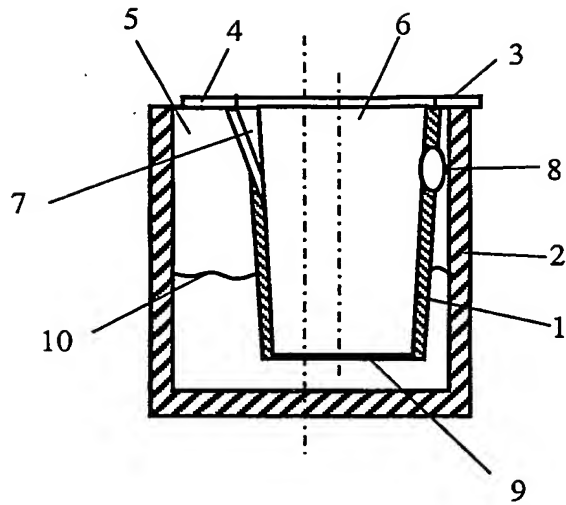
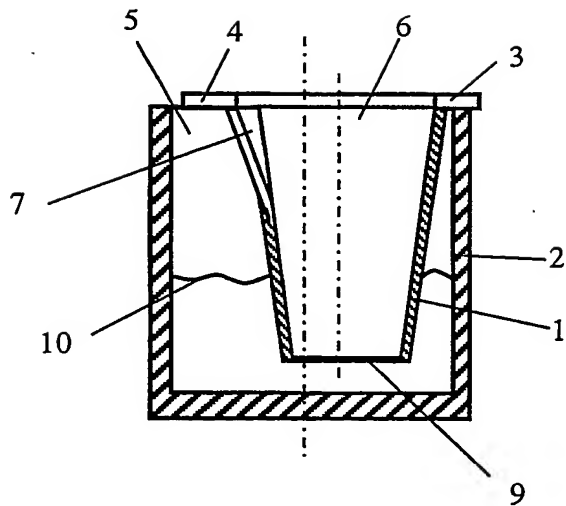


Fig. 3





**Fig. 4****Fig. 5**

## Zusammenfassung

### Zellkultureinsatz

Zellkultureinsatz (1) in Becherform mit einem Membranfilterboden und mit umfangsmäßig verteilten herausstehenden Tragearmen (3, 4) und Abstandhaltern (7, 8) zum Einhängen in runde Well (2), wobei die Abstandshalter (7, 8) auf dem Umfang des Zellkultureinsatz (1) verteilt und zur Seite unterschiedlich lang ausgebildet sind.

Fig. 1

